

CLIPPEDIMAGE= JP362012777A

PAT-NO: JP362012777A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 62012777 A

TITLE: SEPARATION AND PURIFICATION OF BERBERINE ALKALOID

PUBN-DATE: January 21, 1987

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

MOTOYAMA, YOSHIO

KIHARA, NORIAKI

ISHIDA, TATSUKAZU

KATOU, KOUJI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

SEITAI KINO RYU KAGAKU SHINSEIZOU N/A

GIJUTSU KENKYU KUMIAI

APPL-NO: JP60149263

APPL-DATE: July 9, 1985

INT-CL (IPC): C07D455/03; A61K035/78

US-CL-CURRENT: 546/48

ABSTRACT:

PURPOSE: To deposit and separate berberine alkaloid as an ionic salt, by treating a tissue piece or cell of a plant containing the berberine alkaloid with sulfuric acid and adding a salt exchange agent containing chlorine ion, sulfuric acid ion, etc., to the resultant extract solution.

CONSTITUTION: A tissue piece or cell of a plant containing berberine alkaloid, e.g. goldthread or Amur cork, is dipped in a 0.2~0.5N aqueous solution of sulfuric acid for >=1hr to give an extract solution. A salt exchange agent, preferably an aqueous solution of hydrochloric acid or nitric acid, containing chlorine ion and/or nitric acid ion is then added to the extract solution to convert the berberine alkaloid into a slightly soluble ionic salt at 10~30degC deposit and separate the berberine alkaloid.

EFFECT: The aimed substance is obtained in high purity and recovery ratio by the simple method in a few steps.

USE: A medicine for intestinal disorder, remedy for bacterial intestinal diseases and yellowish dyes.

COPYRIGHT: (C)1987,JPO&Japio

## ⑫ 公開特許公報(A) 昭62-12777

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)1月21日

C 07 D 455/03  
// A 61 K 35/786664-4C  
7138-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 ベルベリンアルカロイドの分離精製法

⑯ 特 願 昭60-149263

⑰ 出 願 昭60(1985)7月9日

⑱ 発 明 者 元 山 吉 夫 山口県玖珂郡和木町和木二丁目4番10号  
 ⑱ 発 明 者 木 原 則 昭 山口県玖珂郡和木町和木二丁目11番3号  
 ⑱ 発 明 者 石 田 達 麗 大竹市御園1丁目2番7号  
 ⑱ 発 明 者 加 藤 穂 慈 山口県玖珂郡和木町和木二丁目4番9号  
 ⑲ 出 願 人 生体機能利用化学品新 東京都中央区日本橋茅場町1丁目13番21号  
 製造技術研究組合  
 ⑳ 代 理 人 弁理士 山 口 和

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

ベルベリンアルカロイドの分離精製法

## 2. 特許請求の範囲

- (i) ベルベリンアルカロイドを含有する植物の組織片又は細胞を硫酸で処理して得られる抽出液に、塩素イオン又は／および硝酸イオンを含む塩交換剤を加えてベルベリンアルカロイドを該イオンの塩として析出させてこれを分離することを特徴とするベルベリンアルカロイドの分離精製法。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はベルベリンアルカロイド含有物からベルベリンアルカロイドを分離精製する方法に関する。ベルベリンアルカロイドは整腸薬、細菌性腸疾患治療剤、黄色系の染料などとして需要のある化合物である。

## (従来技術)

ベルベリンアルカロイド含有物からベルベリンアルカロイドを分離する従来の方法に関しては、ベルベリンアルカロイドを生産する植物、例えばミカン科に属する黄柏、キンボウゲ科に属するオウレン等の植物の組織あるいは該組織を組織培養することによつて得られるカルスを原料としてこれよりベルベリンを分離精製する方法がいくつか報告されている。

例えば、特開昭47-30897号公報には組織培養によつて得たカルスを粉碎してこれをメタノールで抽出し、該抽出物を濃縮後これに塩酸を加えて酸性にしてからエーテル抽出を行い、エーテル不溶部をアンモニアでアルカリ性としてからクロロホルムで抽出しこのクロロホルム可溶部を濃縮したものを薄層クロマトグラフィー(T.L.C.)にかけてベルベリンを分取する方法が開示されている。

また、特開昭50-13519号公報及び特開昭51-12993号公報には、組織培養によつて得られた黄柏カルスを粉碎してこれを熱水あるいはメタノール

ルで抽出し、この抽出液を減圧濃縮した後、塩酸で酸性としてメタノールを溶出剤としてアルミナを用いたカラムクロマトグラフィーにかけて夾雑物を除き、得られたベルベリン含有メタノール溶液に熱水を加えて均一にしてから冷却することにより塩化ベルベリンを析出分離する方法が開示されている。

また特開昭55-155056号公報にはキハグの粉砕物に95%エタノールを加えて加温抽出を行い、次にこの抽出液を濃縮後これに水とタルクを加えて加温抽出を行つてから濾過することにより不純物を除去して、ベルベリンを含有した色素抽出液を得る方法が開示されている。該方法はベルベリン抽出液を得る方法であつて、ベルベリンを単離する方法については該公報には何も示されていない。

また特開昭57-144992号公報にはツツラフジ科植物の組織培養によつて得られた培養物からジャトロリジン、パルマチンのベルベリンアルカロイドを分離する方法が開示されている。該方法によれば培養物は培養細胞と培養液に選別された後、

風乾した培養細胞をエタノールで抽出し、一方培養液はアルカリ性にしてからクロロホルムで抽出され、次にそれぞれの抽出物を濃縮した後、これを薄層クロマトグラフィー(T.L.C.)で展開して目的成分を含むスポットを分画し、これを水溶液にしてからヨウ化カリウムを加えてヨード塩として沈澱させて目的のベルベリンアルカロイドを分離する方法が示されている。

以上示した従来のベルベリンアルカロイドの分離精製法はいずれも操作工程が非常に多く複雑であり、しかも得ようとするベルベリンアルカロイドの回収効率が低く、効率が悪い上に更に抽出時に不純物である各種の脂肪酸エステルが随伴されるので後でこれをエーテル処理によつて脱脂処理する必要があるなど欠点を有する。

前記方法とは異なる新しい分離方法として本出願人は、特開昭59-82951号によつて、アキカラマツの組織培養によつて得られる培養細胞と培養液からなる培養混合物、あるいは培養細胞から培養液中に放出されたベルベリンアルカロイドを含む

培養液に塩素イオンまたは硝酸イオンを添加してベルベリンアルカロイドを難溶性の黄色結晶として析出させ、これを単離し、必要に応じて再結晶してベルベリンアルカロイドを分離精製する方法を示した。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明者等はベルベリンアルカロイドの分離精製に関する従来の方法について検討した所、特開昭59-82951号を除く他の方法はいずれも前述したように操作工程が多く複雑で回収効率が低いなど種々の欠点を有していることを認めた。一方特開昭59-82951号の方法は、培養中に培養細胞から液体培地中に放出されてこれに溶解したベルベリンアルカロイド含有水溶液、あるいは培養細胞を破砕処理してベルベリンアルカロイドを細胞外へ抽出したベルベリンアルカロイド含有水溶液を原料として、これに塩素イオン又は硝酸イオンを添加してベルベリンアルカロイドを析出させる方法であるが、更に一層の改良が望まれる。例えば培養細胞を必ずしも機械的に破砕処理しなくても良く、

又分離されたベルベリンアルカロイドの純度を高くできる方法が望まれる。

こういった背景のもとに本発明者等は従来法とは違つて、工程数の少ない簡単な方法によつて、しかも高い回収率でもつてベルベリンアルカロイドを高純度で、ベルベリンアルカロイド含有物から分離精製する方法について鋭意検討した。

(問題点を解決するための手段と作用)

その結果、下記方法を採用すれば前記目的を達成できることを見出し本発明を完成するに到つた。

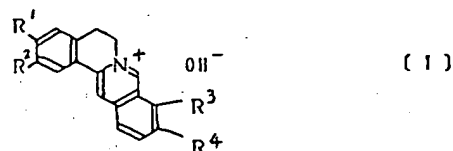
すなわち、本発明の方法によれば、ベルベリンアルカロイドを含有する植物の組織片又は細胞を硫酸で処理して得られる抽出液に、塩素イオン又は/および硝酸イオンを含む塩交換剤を加えてベルベリンアルカロイドを該イオンの塩として析出させてこれを分離することの特徴とするベルベリンアルカロイドの分離精製法、が提供される。

本発明のベルベリンアルカロイドの分離精製法において原料として用いられるベルベリンアルカロイドを含有する植物の組織片又は細胞として具

体的にはオウレン、アキカラマツ等のキンポウゲ科植物、キハダ等のミカン科植物、ツヅラフジ科植物などのベルベリンアルカロイド生産性植物の組織片あるいは該植物組織片の組織培養によつて得られる培養細胞(カルスも含める)である。培養細胞は通常は培養細胞と培地の混合物となつてゐるので、例えば培地として液体培地を用いた場合には培養混合物は必要に応じて培養細胞と培養液に分けられる。ベルベリンアルカロイドを含む培養細胞は湿潤の状態であるいは風乾等によつて乾燥させて、後述する本発明の硫酸で処理する次の抽出操作の原料として用いることができる。一方、培養液には培養細胞からベルベリンアルカロイドが細胞外へ一部放出されている場合があるが、この場合には培養細胞と液体培地を分けて培養細胞を後述の硫酸で処理した水溶液を液体培地と一緒にしてこれに後述の塩交換剤を加えても良いし、あるいは培養混合物の全体に硫酸を添加して処理して細胞内にあるベルベリンアルカロイドを細胞外の水溶液中に抽出し、次に硫酸で処理された培

養混合物中の細胞残渣を濾過等によつて除いた後のベルベリン含有水溶液に後述の塩交換剤を加える方法を採用しても良い。

本発明の方法によつて分離精製されるベルベリンアルカロイドとして具体的には式(1)



で示されるベルベリン( $R_1, R_2 = -OCH_2O-$ 、 $R_3, R_4 = -OCH_3$ )、パルマチン( $R_1, R_2, R_3, R_4 = -OCH_3$ )、コプテイシン( $R_1, R_2 = -OCH_2O-$ 、 $R_3, R_4 = -OCH_2O-$ )、ジャトロリジン( $R_1 = -OH$ 、 $R_2, R_3, R_4 = -OCH_3$ )、コルムバミン( $R_1, R_2, R_3, R_4 = -OCH_3$ )、サリフエンジン( $R_1, R_2 = -OCH_2O-$ 、 $R_3 = -OCH_3$ 、 $R_4 = -OH$ )等のイソキノリン系アルカロイドである。本発明ではこれらの中ではベルベリンが好ましい。

本発明では、前記したベルベリンアルカロイド

含有物は硫酸で処理されてベルベリンアルカロイドを含む抽出液が得られる。この場合の抽出剤としての硫酸は通常は硫酸水溶液が使用され、このときの硫酸濃度としては通常は0.1ないし3規定(N)、好ましくは0.2ないし0.5規定の範囲にある。本発明では前記抽出剤の使用量としては、前記ベルベリン含有物の1重量部当たり前記濃度範囲の硫酸水溶液が通常は1ないし5倍重量部、好ましくは3ないし4倍重量部用いられて、通常10ないし50℃の温度で、約1時間以上浸漬して通常は攪拌下に抽出が行われる。抽出処理後は通常の方法によつて固型物の抽残物を濾過等によつて除きベルベリンアルカロイドを含有する抽出液が得られる。

本発明では、前記方法によつて得られたベルベリンアルカロイドを含有する抽出液は、これに塩素イオン又は/および硝酸イオンを含む塩交換剤を加えることによつてベルベリンアルカロイドは該イオンの塩となつて析出される。

本発明では先の抽出液に塩交換剤を加える場合、

必要に応じてこの抽出液を通宜の濃度を有する固型物を含有しない溶液に濃縮しても差し支えない。本発明で使用される塩交換剤は塩素イオン又は/および硝酸イオンを含んだ水溶性の化合物であつて具体的には、塩化水素、塩酸、塩化リチウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、硝酸、硝酸リチウム、硝酸ナトリウム、硝酸カリウム等を例示できる。本発明ではこれらの中では塩化水素、塩酸、硝酸を使用することが好ましく、この場合塩酸、硝酸としては適宜濃度の水溶液<sup>14.5</sup>のものを<sup>14.5</sup>使用することが出来るが通常は3ないし~~3~~規定の濃度<sup>14.5</sup>のものが使用される。

本発明では前記抽出液に塩交換剤を加える場合の添加量としては、抽出液中のベルベリンアルカロイドの1モル部に対して塩素イオン又は/および硝酸イオンの量が通常は10ないし40倍モル部、好ましくは20ないし30倍モル部である。本発明では塩交換剤の添加量をこのように選ぶことによつて、抽出液中のベルベリンアルカロイドを該抽出液に対して難溶性のベルベリンアルカロイドの塩

酸塩あるいは硝酸塩に効率良く変えて析出させることができる。この場合の析出させる際の温度としては通常0ないし50℃、好ましくは10ないし30℃である。本発明ではこのようにして溶液中のベルベリンアルカロイドを難溶性の塩に変えて析出させた後、該析出物は濾過等の通常の方法によつて溶液から分離される。

本発明では前記方法によつて溶液から分離されたベルベリンアルカロイドの塩酸塩又は／硝酸塩は、例えば水、含水メタノール、含水エタノール、メタノール、エタノール、アセトン等の洗浄剤で洗浄される。洗浄後、メタノール、エタノールなどの低級脂肪族アルコール等の再結晶溶媒を用いて適宜の回致再結晶等の精製操作を行うことにより、ベルベリンアルカロイドを純度の高い該アルカロイドの塩酸塩又は硝酸塩として得ることができる。

#### 〔発明の効果〕

本発明の方法によればベルベリンアルカロイド含有物から従来法に比べて工程数の少ない簡単な

方法によつてベルベリンアルカロイドを高純度でかつ高い回収率でもつて分離精製することができる。

#### 〔実施例〕

以下、本発明の方法を実施例によつて具体的に説明する。

#### 実施例 1

攪拌機を備えた25ℓ抽出槽に、組織培養法で得られたオーレンの生カルス 6.7kg (ベルベリン含有率: 2.0%)、0.3N硫酸14.7kgを入れ25℃で3hr攪拌したのち濾過した。この濾液に室温下攪拌しながら NaCl 550g を入れ、3hr攪拌を続けた。生成した粗塩化ベルベリンの沈澱を濾別後水洗、乾燥した。この粗塩化ベルベリン 110g をメタノール 900g に加熱溶解させ、不溶物を熱時濾過した。濾液を攪拌しながら室温まで徐冷すると、黄色の精塩化ベルベリンが析出した。これを濾過し、メタノール90gで洗浄したのち乾燥すると、高純度の精塩化ベルベリン 100g (回収率75% /

生カルス含有ベルベリン基準、純度99.5%)を得た。

#### 実施例 2

実施例1において、生カルスからベルベリンを抽出する際生カルス-0.3N硫酸からなるスラリーを攪拌することなく、単に25℃で4hr浸漬した以外は実施例1と同様に処理したところ、実施例1と同様の結果を得た。

#### 実施例 3

実施例1において、抽出液の塩交換反応で NaCl の代りに塩酸 950g を投入した以外は実施例1と同様に処理したところ、精塩化ベルベリンが 101g (回収率76%、純度99.5%)得られた。

#### 実施例 4

実施例1において、粗塩化ベルベリンの再結晶に用いるメタノールの代りにエタノール1200gで再結晶し、得られた精製結晶をエタノール 120

gで洗浄した以外は実施例1と同様に処理したところ、精塩化ベルベリンが99g (回収率94%、純度99.0%)得られた。

#### 実施例 5

実施例1において、ベルベリン含有濾液に NaCl を加える代わりに 13.4N硝酸 940g を使用した以外は実施例1と同様に行つたところ、高純度の硝酸ベルベリンが回収率69%で得られた。

出願人 生体機能利用化学品新製造技術研究組合  
代理人 山 口 和